

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-212087

(P 2 0 0 0 - 2 1 2 0 8 7 A)

(43) 公開日 平成12年8月2日(2000.8.2)

(51) Int. Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード [*]	(参考)
A61K 31/505	606	A61K 31/505	606	4C065
31/00	635	31/00	635	4C086
	643		643	
			643	L
// C07D471/04	117	C07D471/04	117	Z
審査請求 未請求 請求項の数 3 書面 (全 8 頁)				

(21) 出願番号 特願平11-51373

(22) 出願日 平成11年1月20日(1999.1.20)

(71) 出願人 397055067

株式会社フジモト・ブラザーズ

大阪府松原市西大塚1丁目3番40号

(72) 発明者 村山 千恵子

神奈川県伊勢原市粕屋143 東海大学医学

部放射線科学教室 I I 内

(72) 発明者 母里 知之

神奈川県伊勢原市粕屋143 東海大学医学

部放射線科学教室 I I 内

(74) 代理人 100068711

弁理士 伊藤 武雄

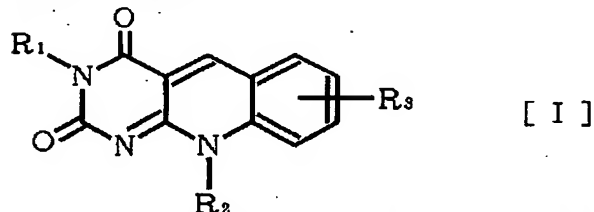
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ニトロ-5-デアザフラビン誘導体を有効成分とする放射線増感剤。

(57) 【要約】

【目的】 放射線制癌において低酸素性細胞に対し勝れた放射線増感作用を有する低毒性化合物を有効成分とする放射線増感剤を提供する。

【構成】 一般式



(式中R₁は低級アルキル基、置換あるいは非置換フェニル基又は水素原子を表し、R₂は炭素数6～16の直鎖状の飽和アルキル基を表し、R₃は6位、7位、8位又は9位の置換基でニトロ基を表す) で示されるニトロ-5-デアザフラビン誘導体及びその薬理学的に許容される溶媒和物を有効成分とする放射線増感剤。

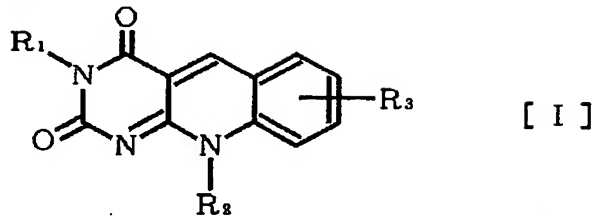
【効果】 本発明放射線増感剤は放射線照射を受けた標的分子から酸素分子に代わって電子を捕獲する能力に優れている。そのため、放射線療法に対して抵抗性を示す低

酸素性癌細胞に対しても、その放射線感受性を増強する効果に優れ、各種悪性腫瘍に対する放射線療法の放射線増感剤として有用である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 式I

【化1】



(式中、R₁は低級アルキル基、置換或いは非置換フェニル基又は水素原子を表し、R₂は炭素数6～16の直鎖状の飽和アルキル基を表し、R₃は6位、7位、8位又は9位の置換基でニトロ基を表す)で示されるニトロ-5-デアザフラビン誘導体及びその薬学的に許容される溶媒和物を有効成分とする放射線増感剤。

【請求項2】 ニトロ-5-デアザフラビン誘導体が、10-ドデシル-9-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-8-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-7-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-3-メチル-9-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-3-メチル-8-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-3-メチル-7-ニトロ-5-デアザフラビン、10-オクチル-3-フェニル-9-ニトロ-5-デアザフラビン、10-オクチル-3-フェニル-8-ニトロ-5-デアザフラビン又は10-オクチル-3-フェニル-7-ニトロ-5-デアザフラビンのいずれかである請求項1記載の放射線増感剤。

【請求項3】 ニトロ-5-デアザフラビン誘導体が、10-ドデシル-3-メチル-8-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-3-メチル-8-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-3-メチル-9-ニトロ-5-デアザフラビン又は10-オクチル-3-フェニル-9-ニトロ-5-デアザフラビンのいずれかである請求項1記載の放射線増感剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、ニトロ-5-デアザフラビン誘導体を有効成分とする放射線増感剤に関する。

【0002】

【従来の技術】従来から、悪性腫瘍に対する治療として外科的療法、化学療法、免疫療法、温熱療法等と共に、放射線療法が行われている。なかでも放射線療法は、多くの悪性腫瘍において高い局所制御率を示しており、有効な治療法として使用されている。また、放射線化学、放射線生物学の最近の進歩に伴って、放射線抵抗性腫瘍の治療に放射線の作用を増強する薬剤が併用されるようになってきた。

【0003】この場合、制癌化学療法剤を含む薬剤が併用されるが、放射線増感剤とは通常細胞レベルの放射線

感受性を高めるが、それ自体制癌作用の無いものが多く、その薬剤自体は制癌剤とは称さない(小野山靖人ら、癌と化学療法、13, 894-903(1986))。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】近年、癌の放射線療法において、腫瘍の増殖に血管の成長が追いつかなくなることから生じる低酸素性癌細胞が、放射線に対し常酸素性癌細胞の2～3倍の抵抗性を示し、これが治癒率低下、再発の一因になっている。よって、この低酸素性癌細胞の放射線に対する感受性を増強し、放射線治療時に併用することによって、治癒率を向上させることを目標とした低酸素性細胞放射線増感剤の開発が強く求められ、1960年代後半から世界中で進められてきた。

【0005】その1つに、ニトロイミダゾール誘導体があり、その代表的な化合物の1つであるミソニダゾール(J. C. Asquith, et al, Radiat. Res., 60, 108(1974))が開発されたが、神経に対する毒性が強く、その増感効果が発現できるまで薬用量を投与できないことがわかり、開発は断念されている(T. Mori, et al, Radio sensitization Newsletter, 2, 1(1983))。また、毒性を抑えたニトロイミダゾール誘導体として、エタニダゾール(米国特許4371540, J. M. Brown, et al, Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys., 7, 595(1985))が開発されたが、これは人での許容用量はミソニダゾールより優れているが、増感活性を得るにはやはりgオーダーの大量投与が必要で、十分な効果発現にまで達し得なかった。

【0006】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、従来から放射線制癌における低酸素性細胞増感剤として、より低毒性で有効な増感活性を示す化合物の合成研究を続けていた。そして、ミソニダゾールに代表されるイミダゾール誘導体にかわる母核として、低毒性で様々な薬理作用を持つフラビン類に着目し、特に5-デアザフラビン誘導体に増感効果を見つけるべく、各種誘導体の合成検討を鋭意重ねてきた。その結果、本発明者らは、ニトロ-5-デアザフラビン誘導体が、ミソニダゾール等の従来化合物の1000分の1のオーダーという微量で、低酸素性細胞に対する勝れた放射線増感作用を有することを見いだした。よって、その微量故に非常に毒性が低く副作用がほとんどないことを見いだし本発明を完成させるに至った。

【0007】本発明化合物の一部は、公知の化合物であり本発明者によって制癌剤として初めて合成され開示されているが(特開平3-81276)、本発明化合物の放射線増感作用は全く未知であった。また、本発明化合物からニトロ基を除いた化合物も上記特許に開示されて

いるが、これらには全く放射線増感作用がない。

【0008】すなわち、本発明化合物は、式I、

【0009】

【化1】

【0010】(式中、R₁は低級アルキル基、置換或いは非置換フェニル基又は水素原子を表し、R₂は炭素数6～16の直鎖状の飽和アルキル基を表し、R₃は6位、7位、8位又は9位の置換基でニトロ基を表す)で示されるニトロ-5-デアザフラビン誘導体及びその薬学的に許容される溶媒和物を有効成分とする放射線増感剤である。

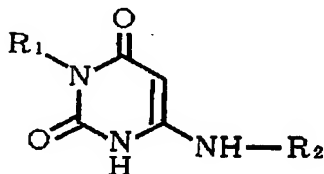
【0011】ここで溶媒和物としての溶媒は、製薬上許容されうるものが好ましく、水、エチルアルコール等が具体例として挙げられる。低級アルキル基は、炭素数1～4のアルキル基で、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、イソブチル基及びtert-ブチル基である。置換フェニルにおける置換基は、ハロゲン原子、アルキル基、アルコキシ基等が挙げられ置換は任意の位置であつてよい。また、飽和アルキル基は、ヘキシル基、ヘプチル基、オクチル基、デシル基、ドデシル基、ペンタデシル基、ヘキサデシル基等が挙げらる。

【0012】式Iの特好ましい化合物は次の通りである；10-ドデシル-9-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-8-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-7-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-3-メチル-9-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-3-メチル-8-ニトロ-5-デアザフラビン、10-ドデシル-3-メチル-7-ニトロ-5-デアザフラビン、10-オクチル-3-フェニル-9-ニトロ-5-デアザフラビン、10-オクチル-3-フェニル-8-ニトロ-5-デアザフラビン、10-オクチル-3-フェニル-7-ニトロ-5-デアザフラビン。

【0013】本発明の化合物は、例えば次の方法により製造することができる。すなわち、式I I

【0014】

【化2】

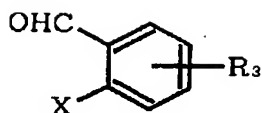


【II】

【0015】(式中、R₁、R₂は前記の式Iと同じものを意味する)で表されるウラシル誘導体と、式I I、

【0016】

【化3】



【III】

【0017】(式中、R₃は3位、4位、5位或いは6位の置換基で前記の式Iと同じニトロ基を意味し、Xはハロゲン原子、低級アルコキシ基を意味する)で表されるベンズアルデヒド誘導体を、通常非プロトン性の溶媒中、室温から還流下に1～48時間反応させて製造される。この場合、Xはハロゲン原子では塩素又は臭素、低級アルコキシ基ではメトキシ基又はエトキシ基が好ましく、非プロトン性の溶媒はDMSO、ベンゼン、トルエン、DMF、THFが好ましい。そして、このようにして得られた5-デアザフラビン誘導体およびその溶媒和物は、常温で精製することによって純品を得ることが出来る。

【0018】本発明化合物及びその溶媒和物は、低酸素性細胞への放射線増感作用の薬理効果の結果として、各種悪性腫瘍に対する放射線療法に医薬として使用することができる。

【0019】すなわち、放射線療法における標的分子はDNAや酵素蛋白であり、これらは放射線照射を受けることによりラジカルが発生する。生成したラジカルは、グルタチオンやジステインといった非蛋白性SH化合物により修復されるが、好氣的条件下では更に酸素分子により電子が奪われるため、細胞内の求核剤の攻撃による修復が不可能となり、結果として細胞に損傷を与える。しかしながら、悪性腫瘍のような低酸素状態の細胞では嫌氣的条件下となり、このような酸素効果が期待できない。

【0020】本発明化合物は、放射線照射を受けた標的分子から酸素分子に代わって電子を捕獲する能力(酸素効果)に優れており、これは上記修復に関与する非蛋白性SH化合物を捕獲する能力によるものと考えられ、その結果として優れた放射線増感作用を示すといえる。

【0021】本発明化合物及びその薬学的に許容される溶媒和物を上記医薬として用いる場合、投与形態には特に制約はないが、通常担体、賦形剤、希釈剤、溶解補助剤等と混合して、錠剤、散剤、顆粒剤、カプセル剤、注射剤などの形態で経口的または非経口的に安全に投与され得る。投与量は患者の症状、年齢、体重、及び腫瘍の種類、化合物により変わり得るが、通常成人の経口投与で20～100mg、注射剤で0.5～20mg、或いは坐剤で20～100mgの範囲で、1回または数回に分けて投与することができる。

【0022】以下に、本発明化合物について具体的に説明するが、本発明がこれらに限定されないことは言うまでもない。

【0023】

【実施例1】10-ドデシル-6-ニトロ-5-デアザ

フラビンの製造

6-N-ドデシルアミノウラシル0.74g (2.5mmol) と2-クロロ-6-ニトロベンズアルデヒド0.56g (3mmol) をジメチルホルムアミド(DMF) 20ml に溶解した液を5時間還流した。反応終了後、混合物を減圧下に濃縮し、得られた残渣をDMFから再結晶し黄色粉末性結晶を0.83g得た。収率78%。

融点 210~213 °C

元素分析 C₂₃H₃₀N₄O₄ として

理論値 C: 64.77, H: 7.09, N: 13.

14 (%)

実測値 C: 64.61, H: 6.87, N: 13.20 (%)

【0024】以下同様に、6-N-アルキルウラシル誘導体と2-ハロゲン-若しくは2-メトキシ-ニトロベンズアルデヒド誘導体を実施例1と同様の操作で反応させ、対応する5-デアザフラビン誘導体を得た(表1)。

【0025】

10 【表1】

表1. 実施例2～12の化合物

実施例	R1	R2	R3	分子式	融点(°C)	性 状	収率 (%)	元素分析	
								理論値(%)	実測値(%)
2	H	n-ドデシル	7-NO ₂	C ₂₃ H ₄₅ N ₃ O ₄	239～241	黄色粉末性結晶	89	C:64.77, H:7.09, N:13.14	C:64.93, H:7.33, N:13.44
3	H	n-ドデシル	8-NO ₂	C ₂₃ H ₄₅ N ₃ O ₄	264～280	黄褐色粉末性結晶	70	C:64.77, H:7.09, N:13.14	C:64.96, H:7.21, N:13.14
4	H	n-ドデシル	9-NO ₂	C ₂₃ H ₄₅ N ₃ O ₄	222～230	淡黄褐色粉末性結晶	85	C:64.77, H:7.09, N:13.14	C:64.78, H:7.05, N:13.25
5	CH ₃	n-ドデシル	6-NO ₂	C ₂₄ H ₄₇ N ₃ O ₄	111～113	黄色粉末性結晶	75	C:65.43, H:7.32, N:12.72	C:65.37, H:7.37, N:12.93
6	CH ₃	n-ドデシル	7-NO ₂	C ₂₄ H ₄₇ N ₃ O ₄	179～180	黄色粉末性結晶	75	C:65.43, H:7.32, N:12.72	C:65.60, H:7.29, N:12.66
7	CH ₃	n-ドデシル	8-NO ₂	C ₂₄ H ₄₇ N ₃ O ₄	180～182	黄褐色粉末性結晶	83	C:65.43, H:7.32, N:12.72	C:65.38, H:7.42, N:12.79
8	CH ₃	n-ドデシル	9-NO ₂	C ₂₄ H ₄₇ N ₃ O ₄	235～238	黄色針状結晶	71	C:65.43, H:7.32, N:12.72	C:65.49, H:7.15, N:12.94
9	C ₆ H ₅	n-オクチル	6-NO ₂	C ₂₅ H ₄₉ N ₃ O ₄	111～113	黄色針状結晶	75	C:67.25, H:5.87, N:12.55	C:67.33, H:5.94, N:12.27
10	C ₆ H ₅	n-オクチル	7-NO ₂	C ₂₅ H ₄₉ N ₃ O ₄	115～119	黄色柱状結晶	77	C:67.25, H:5.87, N:12.55	C:67.04, H:5.71, N:12.46
11	C ₆ H ₅	n-オクチル	8-NO ₂	C ₂₅ H ₄₉ N ₃ O ₄	191～193	淡黄褐色粉末性結晶	83	C:67.25, H:5.87, N:12.55	C:67.35, H:5.72, N:12.66
12	C ₆ H ₅	n-オクチル	9-NO ₂	C ₂₅ H ₄₉ N ₃ O ₄	193～194	黄褐色粉末性結晶	69	C:67.25, H:5.87, N:12.55	C:67.14, H:5.49, N:12.26

【表1】

【0026】

【実施例13】細胞レベルでの低酸素性細胞に対する放射線増感活性の評価は、下記の方法でおこなった。すなわち、EMT 6マウス腫瘍細胞の懸濁液を試験管に入れ、1 μMの濃度に調製した本発明化合物の1 % DMSO溶液を加え、軽く攪拌しながら室温で窒素／二酸化炭素（95：5）の混合ガスを1時間流した。こうして得

た低酸素状態の腫瘍細胞に、⁶⁰Coのγ線を線量を0～35 Gyと変化させ室温で照射した。照射後、細胞をトリプシン処理し、得られた単細胞を希釈してシャーレにまき、37℃で1週間CO₂ インキュベーターで培養し、培養後ギムザ染色してコロニー数をカウントした。カウント数から各線量に対する生存率をグラフにプロットし、線量－生存率曲線を求めた。同様に、化合物を含

有しないコントロールにおける線量-生存率曲線を求めた
(図 1)。

【0027】

【図 1】

【0027】このグラフから各化合物の平均致死線量

(線量-生存率曲線において曲線の肩を越えた指数関数
減少部分で生存率を 37%に減少させる線量) $D_{0.37}$ を求
め、下式より増感率を計算した。

【0027】

【数 1】

化合物非存在下での放射線照射で得られた平均致死線量 D_0

増感率 =

実施例化合物存在下での放射線照射で得られた平均致死線量 D_0

【0028】本発明化合物、及び比較のために用いたミ
ソニダゾールとエタニダゾールの増感率を表 2 にそれぞ
れ示した。表 2 より本発明化合物のほとんどすべてにお
いて増感活性が観察され、特に実施例 7、8、12 の化
合物は非常に勝れた活性を示した。また表より、勝れた

増感作用を持つミソニダゾール、エタニダゾール及びニ
トロ基を除いた対応化合物は、この実験の μM オーダー
の用量では全く効果を示さなかった。

【0029】

【表 2】

表 2. 放射線照射した細胞における本発明化合物 ($1 \mu M$) の増感効果

実施例	増感率
1	1.03
2	1.21
3	1.25
4	1.28
5	1.03
6	1.19
7	1.37
8	1.40
9	1.06
10	1.32
11	1.30
12	1.40
ミソニダゾール	1.00 (増感効果なし)
エタニダゾール	1.00 (増感効果なし)
ニトロ基のない 実施例 1~4 の 対応化合物	1.00 (増感効果なし)
ニトロ基のない 実施例 5~8 の 対応化合物	1.00 (増感効果なし)
ニトロ基のない 実施例 9~12 の 対応化合物	1.00 (増感効果なし)

【0030】尚、嫌氣的条件下で各種濃度で実施例化
合物を投与すると、濃度依存性の増感活性が見られ、本化
合物の濃度を上昇させるにつれて同一線量照射時の生存

率が減少し、好氣的条件下での値に近づくことが観察さ
れた。この実験から、本発明物質は、嫌氣性条件下で放
射線照射した時の腫瘍細胞の生存率を下げ、すなわち、

腫瘍細胞に対する放射線増感作用をあげ、結果として酸素効果と同じ効果を示すことが判明した。

【0031】

【実施例14】製剤例

本発明化合物	200 g
乳糖	210 g
コーンスターチ	64 g
結晶セルロース	64 g
ヒドロキシプロピルセルロース	12 g
ステアリン酸マグネシウム	10 g

合計

560 g

【0032】2) 以下の成分を常法により混合した後、1カプセル当たり185mgを3号ゼラチンカプセルに

1) 以下の成分を常法により混合した後打錠し、直径7mm、1錠重量140mgの錠剤を製造した。(1錠中50mg含有)

本発明化合物	200 g
乳糖	350 g
結晶セルロース	170 g
ヒドロキシプロピルセルロース	12 g
ヒドロキシプロピルセルロース	12 g
軽質無水ケイ酸	8 g

合計

740 g

【0033】3) 以下の成分を湿式造粒法により顆粒剤

に調製した。(1g中250mg含有)

本発明化合物	100 g
乳糖	240 g
コーンスターチ	56 g
ヒドロキシプロピルセルロース	4 g

合計

400 g

【0034】

【発明の効果】以上の説明から明らかな如く、本発明化合物は非常に微量で優れた放射線増感作用を有し、この作用により癌治療における医療への寄与ははかり知れ

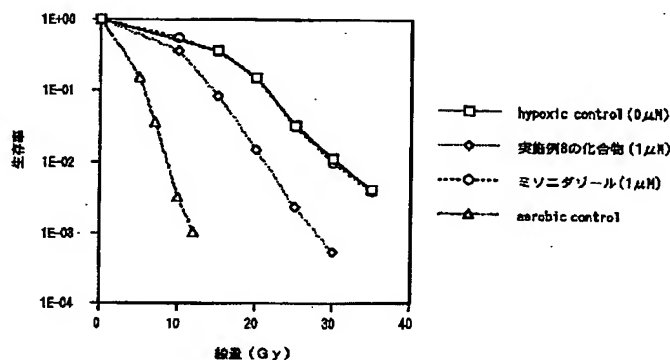
ず、おおいに期待できる。

【図面の簡単な説明】

【図1】 EMT6マウス腫瘍細胞における線量-生存率曲線である。

【図1】

線量-生存率曲線



フロントページの続き

(72) 発明者 栄 雅敏
大阪府松原市西大塚 1 丁目 3 番 40 号 藤本
製薬株式会社・創薬研究所内
(72) 発明者 大出 博功
大阪府松原市西大塚 1 丁目 3 番 40 号 藤本
製薬株式会社・創薬研究所内

(72) 発明者 米田 文郎
大阪府松原市西大塚 1 丁目 3 番 40 号 藤本
製薬株式会社・創薬研究所内
F ターム(参考) 4C065 AA04 BB10 CC01 DD03 EE02
HH01 KK05 LL04 PP01
4C086 AA01 AA02 CB09 MA02 MA04
NA06 NA07 NA14 ZB26